

($P < 0.05$)。α-萜品烯醇高、中、低剂量组, 雷公藤多苷组关节结构破坏与模型对照组比较有显著差别($P < 0.01$)。

3 讨论

类风湿性关节炎是一种由多因素参与, 以自身免疫功能紊乱为主要特点的多系统性炎症性自身免疫性疾病, 具有慢性、易复发的特点。现有治疗方法带来的不良反应及病情控制不佳是困扰治疗的主要问题。因此, 开发治疗类风湿性关节炎的新型药物具有重要意义。

艾叶为菊科植物艾蒿的干燥叶, 性辛、苦、温, 有小毒, 归肝、脾、肾经, 具有温经止血, 散寒调经, 安胎的功效^[3]。由于其生温熟热、纯阳之性, 用于施灸具有理气散寒、回阳救逆、温煦气血、通经活络、活血逐痹、消瘀散结、拔毒泄热等功效, 因此在痹病的治疗中广泛应用^[4]。类风湿性关节炎以关节酸痛、麻木、重浊、屈伸不利, 甚或关节肿大灼热等为主要临床表现, 隶属中医学“痹证”范畴。

艾叶提取物 α-萜品烯醇可调节机体免疫功能紊乱, 并具有抗炎、抑制细胞增殖的作用。IFN-γ 是类风湿性关节炎发病过程中一个重要的促炎因子, 其血清含量多伴随疾病发生而增高。促炎性 Th1 细胞及其分泌的 INF-γ 与抑炎性 Th2 细胞及其分泌的 IL-4 水平失调是关节炎发病的一个重要机制^[5]。本实验发现: α-萜品烯醇能有效缓解 AA 大鼠关节肿胀率, 改善大鼠运动功能, 减少关节畸形的发生; 降低 IFN-γ 水平, 升高 IL-4 水平, 纠

正血清 IFN-γ、IL-4 水平的失衡, 调节 Th1/Th2 水平的平衡, 维持自身免疫平衡, 抑制关节炎的发生和发展; 减轻大鼠关节结构的破坏程度, 减少炎性细胞浸润, 抑制关节滑膜增生及血管翳形成。由此可见 α-萜品烯醇对类风湿性关节炎治疗具有一定的疗效, 具有进一步开发使用的前景。因此, α-萜品烯醇对类风湿性关节炎的治疗从整体水平或细胞分子水平都具有一定的可行性和优越性。本研究可为 α-萜品烯醇用于治疗类风湿性关节炎提供一定的实验依据, 为类风湿性关节炎的治疗提供新思路和新方法, 但 α-萜品烯醇的给药剂量、确切机制等有待进一步探讨。

REFERENCES

- [1] HASSAN S B, GALI-MUHTASIB H, GÖRANSSON H, et al. Alpha terpineol: a potential anticancer agent which acts through suppressing NF-kappaB signalling [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(6): 1911-1919.
- [2] YANG Y L, CHEN C. Effects of total polyphenols from seeds of *Toona sinensis* in treating adjuvant-induced arthritis rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(12): 1073-1077.
- [3] GAO X M. *Traditional Chinese Medicine*(中医学) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2002: 359.
- [4] MA Z Y, WANG J J. The treatment of rheumatoid arthritis in 100 cases with a combination of moxibustion and dispersing cold paste [J]. *Shanghai J Acupunct Moxib*(上海针灸杂志), 2010, 29(3): 188.
- [5] YANG X H, SHI C D, JIA W P, et al. The effects of total flavonoids of astragalus on serum IL-4 and INF-γ of rats with adjuvant arthritis [J]. *J Shanxi Coll Tradit Chin Med*(山西中医学院学报), 2008, 37(5): 60-61.

收稿日期: 2012-12-24

Rho GTP 酶在姜黄素抑制人肺癌细胞增殖和转移中的作用

徐炜^{1,2}, 陈清勇^{2*} (1.浙江中医药大学第二临床医学院, 杭州 310053; 2.解放军第一一七医院呼吸内科, 杭州 310004)

摘要: 目的 探讨姜黄素对人肺癌细胞株(A549)增殖和转移的影响, 并通过检测姜黄素对细胞内 Rho GTP 酶蛋白表达及细胞骨架重组的影响, 揭示 Rho GTP 酶在姜黄素抑制肺癌转移中的作用。方法 应用 MTT 法观察姜黄素对 A549 增殖能力的影响, 体外侵袭实验和迁移实验观察姜黄素对肺癌细胞转移的影响。Western blot 和半定量 RT-PCR 法分别检测姜黄素对与细胞骨架重组相关的 RhoA, Rac1, Cdc42 蛋白和 mRNA 表达的影响。免疫荧光细胞化学法标记微丝, 激光共聚焦扫描显微镜观察姜黄素对细胞骨架重组的影响。结果 姜黄素能抑制 A549 细胞增殖, 增殖抑制率均随处理浓度增大

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2008CA077)

作者简介: 徐炜, 女, 硕士生 Tel: 13588899126 E-mail: x_wei0903@163.com *通信作者: 陈清勇, 男, 博士, 主任医师, 教授 Tel: (0571)87340861 E-mail: cqyong117@163.com

和作用时间延长而增加。与对照组比较, 2.5, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的姜黄素处理 24 h 后的 A549 细胞增殖抑制率较低, 但体外侵袭和迁移能力均显著下降($P<0.01$)。姜黄素能显著下调 RhoA, Rac1, Cdc42 蛋白和 mRNA 表达($P<0.01$), 并能明显影响细胞内微丝骨架的结构和分布。**结论** 姜黄素可通过下调 Rho GTP 酶基因表达, 调控肺癌细胞微丝骨架结构, 进而抑制体外增殖和转移能力。

关键词: 肺癌细胞株; 增殖; 转移; 姜黄素; Rho GTP 酶; 微丝骨架

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)05-0475-06

Role of Rho GTPase in Inhibiting Metastasis and Proliferation Ability of Human Lung Cancer Cell Lines by Curcumin

XU Wei^{1,2}, CHEN Qingyong^{2*} (1.The 2nd Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Department of Respiratory Disease, the 117th Hospital of PLA, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of curcumin on the metastatic and proliferation ability of human highly metastatic lung cancer cell line A549, and explore the role of Rho GTPase in inhibiting lung cancer metastasis by curcumin. **METHODS** MTT assay was used to determine the effects of curcumin on the proliferation of A549 cells. Invasion assay, and migration assay were used to observe the effects of curcumin on the metastatic ability of A549 cells *in vitro*. Western blot and RT-PCR were used to observe the effects of curcumin on the expression of RhoA, Rac1, and Cdc42 proteins and mRNA in A549 cells. Laser confocal microscopy was used to investigate the effect of curcumin on the reorganization of the microfilaments marked by immunofluorescent cytochemistry technology. **RESULTS** Curcumin inhibited the proliferation of A549 cells, and the proliferation inhibition rate increased along with the increase of the concentration and treatment time. When treated with 2.5, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ for 24 h, the effect of the proliferation inhibition of A549 cells was not significant, but the abilities of invasion and migration of A549 cells were inhibited significantly ($P<0.01$). *In parell*, curcumin significantly suppressed the expression of Rac1, Rac2 and Cdc42 proteins and mRNA ($P<0.01$). Furthermore, it also influenced the distribution and structure of cytoskeletons. **CONCLUSION** Curcumin can inhibit the metastatic and proliferation ability of lung cancer cells through down-regulating the expression of Rho GTPase and regulating the cytoskeleton reorganization.

KEY WORDS: lung cancer cells; proliferation; metastasis; curcumin; Rho GTPase; cytoskeleton

姜黄素(curcumin)是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚性色素, 已有研究表明其具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抑制血管生成、调节多药耐药基因的作用^[1-2]。近年来, 也有研究证实姜黄素能够减少肿瘤细胞体内及体外的侵袭和转移^[3-4], 但具体的机制仍然不清楚。大量研究发现^[5-7]Rho亚族调节细胞骨架蛋白, 参与微丝肌动蛋白应力纤维和黏附斑形成, Rho亚族 RhoA、Rac1 和 Cdc42 可通过 ERK-MAPK 信号通路和微丝骨架系统调节肿瘤细胞的转移, 但有关姜黄素是否通过调控 RhoA、Rac1 和 Cdc42 基因表达或调控肺癌细胞内微丝骨架系统的改变, 目前尚不清楚。本研究利用人肺腺癌 A549 细胞和肺成纤维细胞 BEAS-2B 细胞, 观察姜黄素对肺癌细胞株细胞生物学行为的影响, 为姜黄素治疗转移性恶性肿瘤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和试剂

姜黄素购自 Sigma 公司, 以二甲亚砜(DMSO)溶解为 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 临用时用

培养基稀释至所需浓度, 使 DMSO 终浓度 $<0.01\%$ 。RP 1640 购自 Gibco 公司, 四氮甲唑蓝(MTT)购自 Sigma 公司, DMSO 为上海化学试剂公司产品。人肺腺癌 A549 细胞株和肺成纤维细胞 BEAS-2B 细胞株均由本实验室提供。取对数生长期细胞用于各项实验。Taq DNA 聚合酶购自上海 Sangon 生物制品公司, 逆转录试剂盒购自 Promega 公司, Trizol 购自 Gibco 公司。鼠抗人的 RhoA、Rac1 和 Cdc42 单抗均购自 Santa Cruz 公司, 鼠抗人的 β -actin 单抗购自 Sigma 公司。Transwell Chamber $8\text{ }\mu\text{m}$ 孔径购自美国 Costar 公司。

1.2 MTT 比色分析法测定细胞增殖抑制率

取对数生长期的 A549 细胞和肺成纤维细胞 BEAS-2B 分别加入到 96 孔细胞培养板中, 每孔细胞数为 1×10^6 个, 过夜培养, 次日加入终浓度分别为 2.5, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的姜黄素, 总体积为 200 μL 。同时设阴性对照组和空白对照组。每组设 6 个平行孔, 将培养板置 5% CO_2 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱, 于 72 h 后, 在培养板中每孔加入 MTT 20 μL 继续培养 4 h, 吸去上清液, 加入 DMSO(150

$\mu\text{L}\cdot\text{well}^{-1}$), 混匀 10 min 后, 选择 490 nm 波长, 在酶标仪上测定各孔光吸收值(A), 按下列公式计算细胞增殖抑制率: 细胞增殖抑制率(%)=[1-(实验组 A 值-空白对照组 A 值)/(阴性对照组 A 值-空白对照组 A 值)] \times 100%。

1.3 半定量 RT-PCR

按 Trizol 试剂说明书提供的方法提取 RNA, 紫外分光光度计定量。按逆转录试剂盒说明书提供的方法进行逆转录。PCR 反应体系如下: cDNA 模板 1 μL , 10 \times 反应缓冲液 2 μL , 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP 0.15 μL , 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 1 μL , 上、下游引物各 0.5 μL (引物序列: RhoA: 5'-CATCCGGAA GAACTGGT-3' 和 5'-TCCCACAAAGCCAACCTC-3'; Rac1: 5'-AGACGGAGCTGTAGGTAAAA-3' 和 5'-ATGCAGGACTCACAAAGGA-3'; Cdc42: 5'-CGATGGTGCTGTTGGT-3' 和 5'-CCAACAAGCAA GAAAGGA-3'), Taq 酶 0.5 μL , 去离子水 14 μL 。混匀后于 95 $^{\circ}\text{C}$ 温育 5 min, 进入热循环, 循环参数为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 54 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 最后于 70 $^{\circ}\text{C}$ 温育 10 min, 产物于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 1% 琼脂糖凝胶电泳分析结果。

1.4 Western blotting 分析

取对数生长期 A549 细胞, 分成不同剂量(2.5, 5, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的姜黄素组和阴性对照组。4 组细胞同时在 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 环境中培养 24 h。取各组细胞悬液, 利用预冷的 PBS 洗涤 2 次, 4 $^{\circ}\text{C}$, 1 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 收集细胞沉淀。用细胞 5 倍体积的蛋白抽提缓冲液重悬细胞沉淀, 98 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min。待冷至室温, 4 $^{\circ}\text{C}$ 12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清并且取 10 μL , 利用 Lowry 法测定总蛋白浓度, 其余蛋白样品加入 2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT (DTT 的终浓度为 200 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。每个泳道上蛋白样品 20 μg , 经 30% 聚丙烯酰胺凝胶 SDS-PAGE 电泳后, 利用半干电转化法将蛋白转移至 PVDF 膜上, 用含 5% BSA 的 PBST 封闭 3 h, 加入一抗(鼠抗人的 RhoA、Rac1 和 Cdc42 抗体、鼠抗人 β -actin 抗体)孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次; 加入 AP 标记的二抗(稀释倍数: 1 : 500)孵育 1 h, PBST 洗脱 3 次。在膜上加入 ECL 化学发光试剂, 暗室中 X 光片曝光, 并且经定影和显影处理, 获得清晰条带。

1.5 细胞爬片微丝蛋白组织化学染色

将细胞悬液滴于灭菌载玻片上, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、

5% CO_2 孵育箱中爬片 12 h 后取出, 1% PBS 洗一遍, 1% 甲醛固定 20 min, 室温凉干后 -20 $^{\circ}\text{C}$ 存放。载玻片培养细胞至 70%~80% 融合, PBS 洗, 0.2% Triton X100 打孔 2 min, PBS 洗, 滴加 TRITC-标记的鬼笔环肽(15 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 避光室温放置 45 min, PBS 洗, 1 : 1 甘油/PBS 封片。激光共聚焦显微镜下观察。

1.6 划痕修复实验

将 5×10^5 个细胞接种于 6 孔板中, 10% 热灭活新鲜小牛血清的 RPMI 1640 培养液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵育箱中培养。待细胞单层生长铺满孔底, 用 200 μL 无菌枪尖小心在孔底划痕, PBS 轻柔洗掉细胞碎片, 每孔加入 16 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ fibronectin 继续培养。倒置显微镜下观察照相。比较划痕后各组细胞对划痕的修复面积, 并通过测量不同细胞残留划痕的宽度, 计算划痕修复率。划痕修复率=[0 h 划痕宽度-24 h 划痕宽度]/24 h 划痕宽度 \times 100%。

1.7 侵袭实验

将 Matrigel 按 50 $\mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$ 均匀的铺在 Transwell Chamber 膜上。常规培养肺癌细胞, 当细胞生长达 80% 融合状态时用生理盐水洗 3 次, 然后加无血清 RPMI-1640 液继续培养 24 h 后, 消化离心后无血清培养基调整细胞密度为 1×10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。取对照组和实验组细胞(加 2.5, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 姜黄素处理 24 h), 分别取 0.2 mL 接种到成胶的 Transwell Chamber 并将 Transwell Chamber 置于 24 孔板内。同时在 Transwell 小室下层加入含有 10% 胎牛血清的 1640 培养基, 每孔 0.6 mL 培养 24 h 后, 取出 Transwell Chamber, 用棉签头擦掉 Matrigel, PBS 液洗 3 次, 甲醇固定, 0.1% 的结晶紫染色。在光镜下随机选 5 个不同视野, 计数穿膜的细胞数, 取均值, 每组平行设 3 个小室, 实验重复 3 次。

1.8 统计学方法

用 SPSS 13.5 软件分析, 数据统计采用 $\bar{x}\pm s$, 单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 姜黄素对 A549 肺癌细胞株的生长抑制作用

不同浓度姜黄素对 A549 细胞和 BEAS-2B 细胞作用 6~48 h 的增殖抑制率见图 1。由结果可知, 姜黄素对 A549 肺癌细胞株的生长有明显的抑制作用, 并呈现剂量和时间的依赖性。然而, 相同浓度的姜黄素对肺成纤维细胞(BEAS-2B)没有抑制作用, 说明姜黄素对细胞的作用具有一定的选择性。

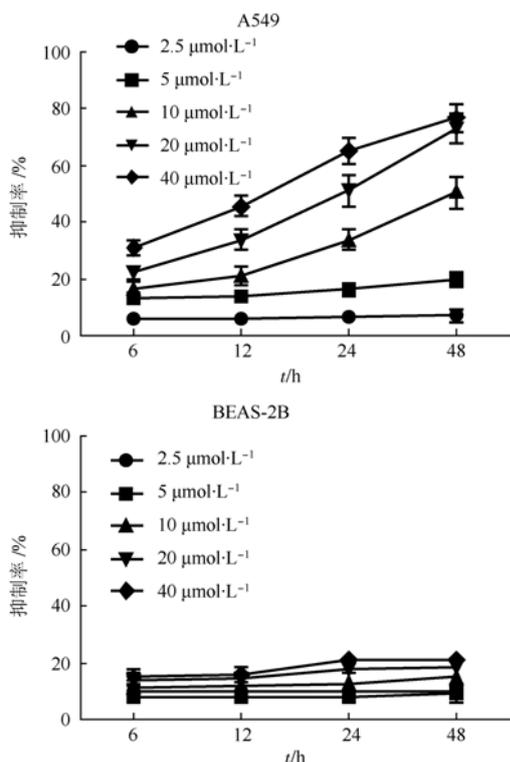


图1 MTT法检测不同浓度的姜黄素在6, 12, 24, 48 h时对各细胞株生长的抑制作用

Fig 1 MTT assay was used to determine the effects of curcumin on the proliferation inhibition rate of the two cells in 6, 12, 24, 48 h

2.2 姜黄素抑制 A549 肺癌细胞株的迁移能力

划痕修复实验显示姜黄素可抑制肺癌细胞株的迁移能力, 见图 2。其中, 在 24 h 的作用时间点上, 2.5, 5 μmol·L⁻¹ 的姜黄素对 A549 细胞的迁移能力均明显低于对照组($P < 0.01$)。

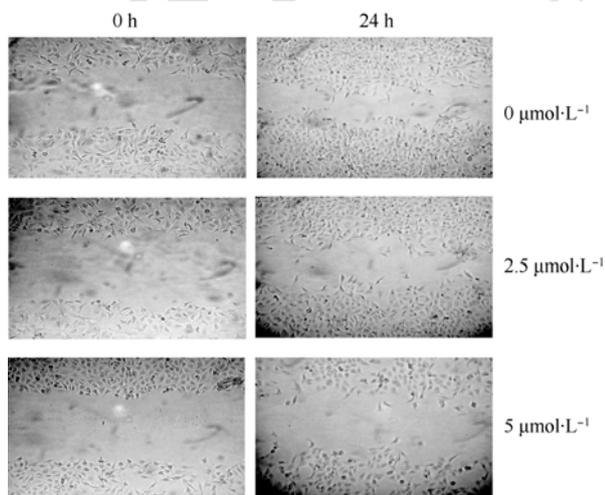


图2 划痕修复实验检测不同浓度姜黄素处理后 A549 细胞的迁移能力变化

Fig 2 Scratch test to observe the effects of curcumin on the migration ability changes of A549 cells

2.3 姜黄素抑制 A549 肺癌细胞株的侵袭能力

2.5, 5 μmol·L⁻¹ 的姜黄素分别处理 A549 细胞 24 h 后, A549 细胞处理组其侵袭穿膜 24 h 的细胞数均明显低于对照组($P < 0.01$), 结果见图 3。表明姜黄素能显著抑制肺癌细胞的体外侵袭能力。

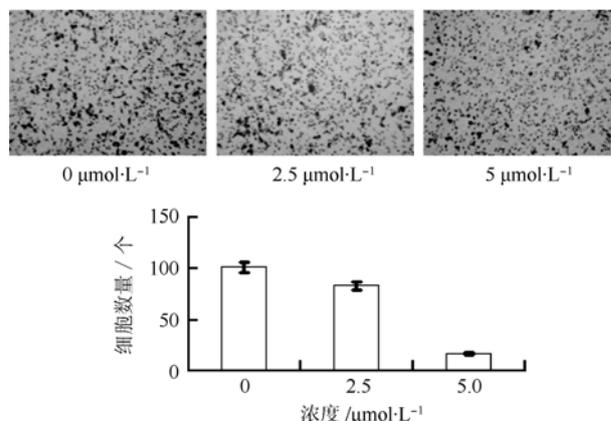


图3 Transwell 模型实验检测不同浓度姜黄素处理后 A549 细胞的侵袭能力变化

Fig 3 Transwell test to observe the effects of curcumin on the invasion ability changes of A549 cells

2.4 姜黄素对肺癌细胞微丝骨架结构的影响

激光共聚焦扫描显微镜观察后发现, A549 细胞内微丝主要分布于细胞膜和细胞浆, 连成网状(主要在细胞浆内有均一的红色荧光染色)。2.5, 5 μmol·L⁻¹ 的姜黄素处理 24 h 后的 A549 细胞, 微丝骨架结构均发生显著的变化。微丝网状结构出现不清晰, 胞浆内的微丝束纤维减少, 向皮质部聚集; 同时质膜突起、纤毛和膜皱褶减少, 局部出现溶解或断裂现象。表明姜黄素处理后的 A549 细胞内微丝结构和分布有着显著的变化, 结果见图 4。

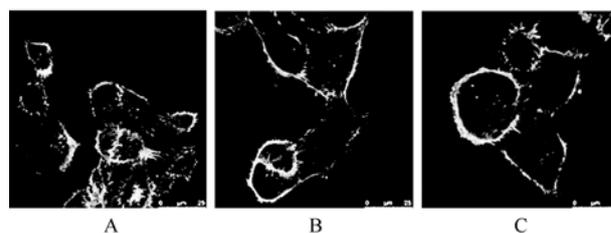


图4 姜黄素处理后的 A549 细胞微丝骨架的变化

A-0 μmol·L⁻¹ 姜黄素处理 24 h 后的 A549 细胞微丝骨架; B-2.5 μmol·L⁻¹ 姜黄素处理 24 h 后的 A549 细胞微丝骨架; C-5 μmol·L⁻¹ 姜黄素处理 24 h 后的 A549 细胞微丝骨架

Fig 4 Effects of curcumin on the microfilaments changes of A549 cells

A-the effects of the microfilaments changes of A549 cells treated with 0 μmol·L⁻¹ curcumin; B-the effects of the microfilaments changes of A549 cells treated with 2.5 μmol·L⁻¹ curcumin; C-the effects of the microfilaments changes of A549 cells treated with 5 μmol·L⁻¹ curcumin

2.5 姜黄素抑制 A549 肺癌细胞株中 RhoA, Cdc42 和 Rac1 的表达

小 G 蛋白 RhoA, Rac1 和 Cdc42 参与细胞肌动蛋白聚合/解聚作用, 进而调节细胞迁移、转录和细胞周期。本实验分别应用 RT-PCR 法和 Western blot 法检测肺癌细胞转移过程中是否伴随着 RhoA、Rac1 和 Cdc42 的 mRNA 水平和蛋白水平的改变。结果显示: 在 A549 肺癌细胞株中, RhoA, Rac1 和 Cdc42 的蛋白表达和 mRNA 水平均较高。用 2.5, 5, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 姜黄素处理 A549 细胞 24 h 后, 姜黄素呈剂量依赖性抑制 RhoA, Rac1 和 Cdc42 的 mRNA 水平和蛋白表达水平, 结果见图 5 和图 6。以上实验结果表明, 姜黄素抑制肺癌细胞的增殖转移和诱导肌动蛋白细胞骨架的重组是通过调节 Rho GTP 酶信号通路来完成。

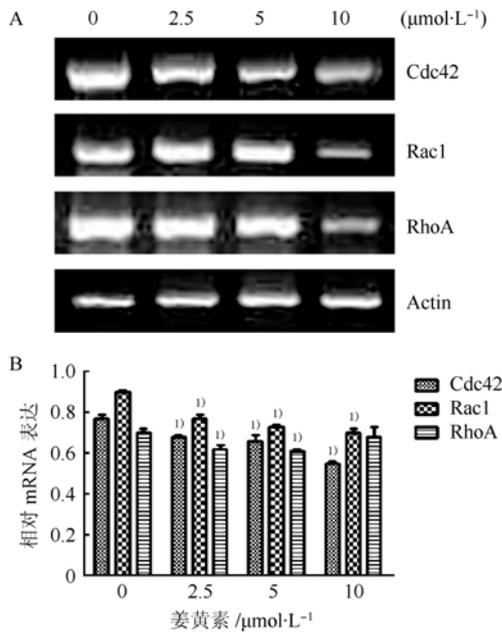


图 5 RT-PCR 法检测 A549 细胞株 RhoA、Rac1 和 Cdc42 的 mRNA 水平

A-条带图; B-定量图; $^{1)}P<0.01$

Fig 5 RT-PCR were used to observe the effects of curcumin on the expression of RhoA, Rac1, and Cdc42 mRNA in A549 cells

A-histogram; B-quantitative diagram; $^{1)}P<0.01$

3 讨论

本实验结果显示, 姜黄素能够抑制肺癌细胞的恶性增殖, 并呈现时间和剂量依赖关系。此外, 低浓度姜黄素处理 24 h 后的肺癌细胞增殖抑制率较低, 但相同浓度下的体外侵袭和迁移实验表明, 姜黄素可以有效的抑制肺癌细胞的侵袭和迁移能力, 主要表现为侵袭基底膜细胞数和划痕修复率

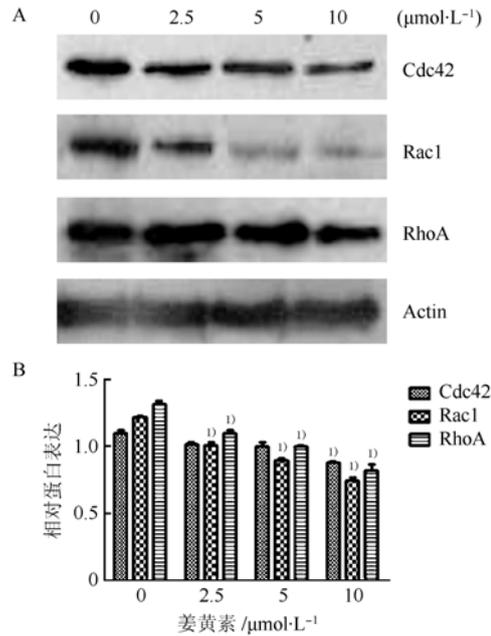


图 6 Western blot 检测 A549 细胞株 RhoA, Rac1 和 Cdc42 的蛋白表达水平

A-条带图; B-定量图; $^{1)}P<0.01$

Fig 6 Western blot were used to observe the effects of curcumin on the expression of RhoA, Rac1, and Cdc42 proteins in A549 cells

A-histogram; B-quantitative diagram; $^{1)}P<0.01$

的显著减少。这些结果提示: 姜黄素能够抑制人肺癌细胞的恶性增殖, 而且对肺癌细胞的体外侵袭和迁移都也有显著的抑制作用。

Rho 家族成员在乳腺癌、肺癌、胰腺癌、食管鳞状细胞癌和膀胱癌组织中高表达, 并且与这些肿瘤的侵袭、转移密切相关, 提示 Rho 家族成员可能成为新的肿瘤标志物, 用于肿瘤的基因治疗^[8-13]。细胞微丝骨架重排和其介导的细胞运动、细胞间作用是肿瘤转移领域研究热点之一。F-actin 是微丝骨架的主要结构蛋白, 其在不同表型肿瘤细胞中分布及表达不同, 参与多种肿瘤恶性化转变和转移过程^[14]。本实验对 Rho GTP 酶蛋白表达和细胞骨架重组的检测发现, 姜黄素能显著下调 Rho GTP 酶蛋白表达和 mRNA 水平, 并明显改变细胞微丝骨架结构和分布, 主要表现为质膜突起和膜皱褶减少, 细胞基底外侧微刺结构明显减少。推测姜黄素对肺癌细胞转移的抑制作用可能与下调 Rho GTP 酶基因表达, 进而抑制 Rho GTP 酶对细胞骨架重组的调控有关。进一步探索姜黄素抑制肿瘤转移的分子机制及揭示 Rho GTP 酶在姜黄素抑制肿瘤转移中的作用, 开展以 Rho 为靶点的治疗策略可能为预防和治理肺癌的侵袭转移提供一种新的途径。

REFERENCES

- [1] ANTOSIEWICZ J, ZIOLKOWSKI W, KAR S, et al. Role of reactive oxygen intermediates in cellular responses to dietary cancer chemopreventive agents [J]. *Planta Med*, 2008, 74(13): 1570-1579.
- [2] CHOI B H, KIM C G, LIM Y, et al. Curcumin downregulates the multidrug-resistance *mdr1b* gene by inhibiting the PI3K/Akt/NF-kappaB pathway [J]. *Cancer Lett*, 2008, 259(1): 111-118.
- [3] MENON L G, KUTTAN R, KUTTAN G. Anti-metastatic activity of curcumin and catechin [J]. *Cancer Lett*, 1999, 141(2): 159-165.
- [4] CHEN H W, YU S L, CHEN J J, et al. Anti-invasive gene expression profile of curcumin in lung adenocarcinoma based on a high through put microarray analysis [J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 65(1): 99-110.
- [5] HALL A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton [J]. *Science*, 1998, 279(5350): 509-514.
- [6] TAKAI Y, SASAKI T, TANAKA K, et al. Rho as a regulator of the cytoskeleton [J]. *Trends Biochem Sci*, 1995, 20(6): 227-231.
- [7] NAN Q Z, GAO L, ZHANG Z S. Role of Rac1 activation in migration and invasion of colorectal cancer cell line SW480 [J]. *Chin J Oncol*(中华肿瘤杂志), 2007, 29(9): 666-669.
- [8] YUAN Z, SU J, YOU Y F, et al. Correlation of expression of RhoC with invasiveness of breast cancer cells *in vitro* [J]. *Chin J Oncol*(中华肿瘤杂志), 2007, 29(12): 898-903.
- [9] KAMAI T, YAMANISHI T, SHIRATAKI H, et al. Overexpression of RhoA, Rac1, and Cdc42 GTPases is associated with progression in testicular cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(14): 4799-4805.
- [10] CUIYAN Z, JIE H, FANG Z, et al. Overexpression of RhoE in non-small cell lung cancer (NSCLC) is associated with smoking and correlates with DNA copy number changes [J]. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6(3): 335-342.
- [11] FRITZ G, JUST I, KAINA B. Rho GTPases are over-expressed in human tumors [J]. *Int J Cancer*, 1999, 81(5): 682-687.
- [12] KAMAI T, TSUJII T, ARAI K, et al. Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(7): 2632-2641.
- [13] FARIED A, FARIED L S, KIMURA H, et al. RhoA and RhoC proteins promote both cell proliferation and cell invasion of human oesophageal squamous cell carcinoma cell lines *in vitro* and *in vivo* [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(10): 1455-1465.
- [14] HASHIMOTO Y, SKACEL M, ADAMS J C. Roles of Fascin in human carcinoma motility and signaling: prospects for a novel biomarker? [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(9): 1787-1804.

收稿日期: 2013-01-06

维生素 B12 与腔隙性脑梗塞后抑郁的关联研究

李中春, 芮登俊, 江霞(浙江省立同德医院神经内科, 杭州 310012)

摘要: 目的 探讨血清维生素 B12 与腔隙性脑梗塞后抑郁之间关系。方法 2009 年 6 月—2012 年 6 月腔隙性脑梗塞患者共 829 例, 使用汉密尔顿抑郁量表将患者分为两组: 无抑郁组和抑郁组, 比较两组间血清维生素 B12 浓度和维生素 B12 缺乏者的比例。在抑郁组内对汉密尔顿抑郁量表评分和血清维生素 B12 浓度进行曲线拟合。结果 无抑郁组患者 750 例, 血清维生素 B12 平均浓度为 $(172.5 \pm 20.4) \text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中维生素 B12 缺乏者 212 例。抑郁组 79 例, 血清维生素 B12 平均浓度为 $(139.1 \pm 18.2) \text{pmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中维生素 B12 缺乏者 53 例。两组间维生素 B12 浓度和缺乏比例均存在显著差异 ($P < 0.0001$)。通过对汉密尔顿抑郁量表评分随血清维生素 B12 浓度变化的曲线拟合得知, 倒数曲线拟合度较好。结论 腔隙性脑梗塞后抑郁与维生素 B12 缺乏存在相关性。

关键词: 腔隙性脑梗塞; 抑郁症; 维生素 B12

中图分类号: R969.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)05-0480-03

Association of Vitamin B12 with Depression after Lacunar Stroke

LI Zhongchun, GUO Dengjun, JIANG Xia(Department of Neurology, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the association of serum vitamin B12 with depression after lacunar stroke. **METHODS** Between June 2009 and June 2012, 829 patients with lacunar stroke, according to Hamilton depression scale score, were divided into two groups: group with depression and group without depression. The concentration of serum vitamin B12 and the ratio of vitamin B12 deficiency were compared. The relationship between Hamilton depression scale score and the

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y2110679)

作者简介: 李中春, 男, 硕士, 主治医师 Tel: (0571)89972387 E-mail: doclinkgdh@163.com